مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

دراسة أولية عن الانتشار الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات في أراضي مختلفة في محافظة اللاذقية . سورية وفاعليتها في يرقات دودة الشمع الكبرى

الدكتورة ندى ألوف*

(تاريخ الإيداع 8 / 12 / 2011. قبل للنشر في 28 / 2 / 2012)

□ ملخّص □

تم جمع 68 عينة تربة مركبة من 10 مواقع في محافظة اللاذقية خلال عامي 2008-2009، شملت ترب مختلفة من الأراضي المزروعة، البور والغابات بهدف الكشف عن وجود النيماتودا الممرضة للحشرات بطريقة الطعم بوساطة يرقات العمر الأخير من دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella L.*.

بينت النتائج أن نسبة العينات الإيجابية بلغت 22% من إجمالي العينات المدروسة، حيث تم الحصول على 15 عزلة نيماتودية تم تعريفها حتى مستوى الجنس، وتبين أنها تتبع للجنسين: *Heterorhabditis* و *Steinernema*، ظهر كل جنس بشكل منفرد في 53.3% و33.3% على الترتيب كما ظهر الجنسان مترافقين معاً في 13.3% من مجمل العزلات.

ساد الجنس *Heterorhabditis* في الأراضي الزراعية بنسبة 77.7%، في حين ساد الجنس *Steinernema* في الأراضي البور بنسبة 66.6%. أما في العزلات التي تم الحصول عليها من أرض الغابة فقد ظهر كلا الجنسين بشكل منفرد ومترافقين معاً بنسب متساوية بلغت 33.3%.

ثبت أن فاعلية العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* أقوى من العزلات التابعة للجنس *Steinernema* في قتل يرقات دودة الشمع الكبرى.

الكلمات المفتاحية: النيماتودا الممرضة للحشرات، حصر، فاعلية، *Steinernema*، *Heterorhabditis*، سورية.

* **مدرس – قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

Preliminary Study on The Natural Spreading of Entomopathogenic Nematodes in Different Lands in Lattakia, Syria and Efficacy in Larvae of The Greater Wax Moth

Dr. Nada Allouf*

(Received 8 / 12/ 2011. Accepted 28/ 2 /2012)

□ ABSTRACT □

A total of 68 soil samples were collected from 10 sites in Lattakia during the years 2008, 2009 including different soils from planted, non-planted lands and forest, Samples were tested for the presence of entomopathogenic Nematodes (EPNs) by baiting method using the last larval instar of the greater wax moth *Galleria mellonella* L.

Results showed that positive samples were 22% of total samples, where fifteen isolates of EPNs were identified for genus levels which were *Heterorhabditis* and *Steinernema*. Each genus appeard individually in 53.3% and 33.3% respectively, and in 13.3% of total isolates they were associated together.

In planted lands Heterorhabditis was dominant at a rate of 77.7%, while in the Non-planted lands Steinernema was dominant at rate of 66.6%, whereas in Forest lands both genera appeared individually or associated together in equal rates: 33.3%.

Efficacy of *Heterorhabditis* 's isolates was more than *Steinernema*'s in killing the greater wax moth larvae.

Keywords: Entomopathogenic, Nematode, Survey, Efficacy, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, Syria.

***Assistant professor, Department of plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يطلق اسم النيماتودا الممرضة للحشرات Entomopathogenic nematodes على النيماتودا التي تقتل الحشرات خلال 48 ساعة نتيجة لوجود بعض أنواع البكتريا المعاشرة لها والتي تسبب تسمماً بكتيرياً للحشرة وموتها سريعاً. ويمكن الحصول على هذه النيماتودا من التربة أو من الحشرات الميتة والمصابة بها في الطبيعة (رجائي، 2010).

إن معرفة الارتباط بين كل من النيماتودا والحشرات تعود إلى القرن السابع عشر (Poinar, 1979)، إلا أن الاهتمام الحقيقي بالنيماتودا الممرضة للحشرات بدأ في العقد الثالث من القرن التاسع عشر (Glaser & Fox, 1930) وأصبح من المعروف أن عزل النيماتودا الممرضة للحشرات المنتشرة طبيعياً وتعريفها يعدّ الخطوة الأولى لإكثارها مخبرياً واستخدامها في برامج المكافحة الحيوية للآفات الحشرية المختلفة (Grewal *et al*, 2005).

نفذت دراسة مسح في أمريكا بهدف تقصي وجود النيماتودا الممرضة للحشرات شملت 14 منطقة من ولاية كارولينا الشمالية، تم فيها أخذ عينات ترابية من حقول مزروعة بالصويا والحبوب النجيلية وعينات من حقول مزروعة بالأشجار المثمرة وأراضي الغابات، كان نتيجتها أن 47.27% من العينات المدروسة تحتوي على النيماتودا الممرضة للحشرات التي كان تواجدها أكثر في الأراضي المزروعة وفي بساتين الأشجار المثمرة، منها في أراضي الغابات. وكان الجنس *Heterorhabditis* سائداً ظهر في 84% من العينات المدروسة (Akhurst and Brooks , 1984).

ثُبِتَ في الجمهورية التشيكية انتشار النيماتودا الممرضة للحشرات في التربة الخفيفة وفي بيئة بساتين الفاكهة، في حين لم يثبت انتشارها في التربة الثقيلة سواء في الغابات أو الحقول الزراعية (Zdenêk *et at*.,1999).

في بداية التسعينيات تم تنفيذ مشروع لمسح الأراضي المصرية بحثاً عن النيماتودا الممرضة للحشرات سجل بنتيجته وجود عزلات تنتمي إلى الجنس *Heterorhabditis*، وتبعها فيما بعد تسجيل عزلات تنتمي إلى الجنس *Steinernema* (رجائي، 2010).

تم تسجيل الجنسين *Steinernema* و*Heterorhabditis* في أراضي بعض الدول المجاورة لسورية مثل تركيا (Selcuk *et al*., 2003 a) والأردن (Wafa *et al*., 2007)، وفي العراق تم عزل نيماتودا تتبع للجنس *Steinernema* من حشرة ميتة لحفار ساق المشمش (الجبوري والزوبعي، 2006).

في سورية وفي أول دراسة حصر للنيماتودا الممرضة للحشرات من تربة مختلف المحافظات السورية سجل جنسٌ وحيدٌ (*Heterorhabditis*) بنسبة انتشار منخفضة لم تتجاوز 2.4% من مجمل العينات المدروسة (Canhilal *et al*. , 2006)، في حين تمَّ تسجيل كلا الجنسين *Heterorhabditis* و*Steinernema* في حقول اللوزيات في اللاذقية وبلغت نسبة الانتشار 15% من عينات التربة المدروسة (ألوف وآخرون، 2008).

يتبع الجنس *Steinernema* للعائلة Steinernematidae، في حين يتبع الجنس *Heterorhabditis* للعائلة Heterorhabditidae، وكلا العائلتين تتبعان لرتبة Rhabditida التي تتواجد أفرادها في التربة، فقط على شكل الطور المعدي الذي يعرف باسم Infective Juvenile، وهو يمثله الطور اليرقي الثالث المعروف بالرمز (I J3). (Sandner , 1990).

يتعايش الطور المعدي (I J3) مع نوع معين من البكتريا تعيش في أمعائه بصورة تكافلية، ويختلف النوع البكتيري الذي تحمله النيماتودا باختلاف الجنس النيماتودي، حيث يرتبط الجنس *Steinernema* بالبكتريا التابعة

للجنس *Xenorhabdus*، في حين يرتبط الجنس *Heterorhabditis* بالبكتريا التابعة للجنس *Photorhabdus* (رجائي، 2010; Smart, 1995; Forest and Clarke, 2002).

تتمايز أفراد الطور المعدي الموجود في التربة التابعة لكل من الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* ببعض الصفات المورفولوجية التفريقية وبطريقة الدخول إلى جسم الحشرة، فمثلاً الطور المعدي التابع للجنس *Heterorhabditis* يتميز بكيوتيكل مضاعف ناتج عن عملية الانسلاخ، ويظهر على شكل غلاف يحميه من الظروف البيئية غير المناسبة أثناء وجوده في التربة، كما يتميز بوجود سن واضح في مقدمة الرأس يستطيع بوساطته اختراق جسم الحشرة من خلال جدار الجسم إلى جانب الدخول عبر فتحات الجسم الطبيعية (مسلم، 2009 ؛ رجائي، 2010).

هاتان الصفتان لا يتمتع بهما الطور المعدي التابع للجنس *Steinernema* حيث يتم الدخول إلى جسم الحشرة فقط عبر فتحات الجسم الطبيعية مثل الفم، الشرج، الثغور التنفسية (رجائي، 2010؛ Sandner, 1990).

من جهة أخرى يتمايز الجنسان في طريقة التطور داخل جسم الحشرة، ففي الجنس *Steinernema* وإثر دخول الطور المعدي إلى جسم العائل الحشري تتحرر البكتريا من القناة الهضمية للنيماتودا وتصل إلى دم الحشرة حيث تتكاثر هناك وتؤدي إلى تحلل وتعفن الدم وموت الحشرة خلال 24 ساعة، وبعد موت الحشرة تبدأ أفراد النيماتودا المعدية بالتغذية على نواتج تحلل الحشرة الميتة والبكتريا فتنسلخ اليرقة J3 لتعطي اليرقة J4 وبعد فترة من التغذية تنسلخ اليرقة J4 لتصل إلى الطور البالغ الذي يتمايز إلى أفراد مذكرة وأفراد مؤنثة وبعد التزاوج تضع الإناث البيوض التي تفقس لتعطي اليرقات J2 وهذه تتابع تغذيتها على جسم الحشرة المتحللة ثم تتطور وتتكاثر لتعطي أكثر من جيل في العائل الحشري وتستغرق دورة الحياة 10 أيام، وتبدأ بإنتاج الأجيال الجديدة من الأطوار المعدية والتي ترتفع كثافتها خلال أسبوعين إلى نحو مليون فرد /غرام واحد من جسم العائل الحشري.

تغادر الأطوار المعدية جثة العائل إلى التربة وتتوقف عن التطور وتبقى في التربة بدون تغذية وتتحرك بحثاً عن عائل جديد (Forest and Clarke, 2002).

أما في الجنس *Heterorhabditis*، بمجرد دخول الطور المعدي إلى جسم الحشرة ينسلخ متخلصاً من الغلاف الخارجي ثم تتحرر البكتريا المعاشرة من قناته الهضمية خارجة من فتحة الشرج وتبدأ البكتريا بالنمو والتكاثر على دم الحشرة مفرزة سموماً ومثبطات حيوية تؤدي إلى موت الحشرة بعد فترة 48 ساعة، ثم تتغذى النيماتودا على محتويات الدم المتحللة بالإضافة إلى تغذيتها على البكتريا المنتشرة فيه وتنمو وتتطور إلى خناث تلد ديداناً أو يرقات J2 تنمو وتتطور بالتغذية على جثة العائل وبعد ثلاثة انسلاخات تصل إلى طور البلوغ فتعطي أفراداً مذكرةً وأفراداً مؤنثةً، تتزاوج ثم تلد الأنثى البالغة يرقات الطور المعدي وذلك بعد سبعة إلى ثمانية أيام من العدوى تخرج اليرقات من جسم الحشرة الميتة ويتوقف تطورها وتتحرك في التربة باحثة عن عائل حشري جديد (توفيق، 1997؛ رجائي، 2010).

أهمية البحث وأهدافه:

إن الدراسات المتعلقة بالنيماتودا الممرضة للحشرات تعدّ حديثة العهد في سورية، وهي ما زالت قليلة ونادرة. تساهم هذه الدراسة في الكشف عن أجناس النيماتودا الممرضة للحشرات والمنتشرة طبيعياً في بيئات مختلفة حيث أصبح معروفاً أن العزلات المحلية من النيماتودا الممرضة للحشرات تكون أكثر فعالية من العزلات التجارية ضد الآفات الحشرية المستوطنة.

إن الحصول على هذه العزلات المحلية ومن ثم تعريفها، وإكثارها مخبرياً، يعتبر حجر الأساس الذي يمكن أن يقودنا إلى دراسات تطبيقية هامة في مجال اختبار فعالية هذه العزلات في قتل الآفات الحشرية، وبالتالي التوصل إلى تطبيق المكافحة الأحيائية للحشرات (التي تعيش في التربة وفي الأنفاق النباتية وفي بيئات رطبة بعيدة عن أشعة الشمس المباشرة) كبديل آمن قد يغني عن استخدام المبيدات الكيماوية المكلفة والضارة بالبيئة.

هدف البحث إلى عزل النيماتودا الممرضة للحشرات في التربة من بيئات متنوعة شملت الأتربة الزراعية، الأتربة الجرداء (البور) وأتربة الغابات. ثم تعريف العزلات حتى مستوى الجنس وتحديد نسبة الانتشار، ودراسة مؤشرات الفاعلية (نسبة الموت، نسبة العدوى) في قتل يرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* (*G.m.*) المستخدمة. ثم الإكثار المخبري لأجناس النيماتودا المعزولة بهدف تحديد قدرتها على إنتاج أجيال جديدة من الطور المعدي.

طرائق البحث ومواده:

العمل الحقلي:

تمَّ جمع 68 عينة ترابية مركبة من 10 مواقع مختلفة في محافظة اللاذقية تضمنت تربة مزروعة بمزروعات مختلفة (خضار، نباتات زينة، أشجار فاكهة)، وتربة أرض بور من تلك الأراضي المهملة والتي لم يسبق حراثتها أو زراعتها لعدة سنين، أو الأراضي المتروكة دون زراعة بهدف تخصيصها للبناء، وتم مراعاة اختيار الأراضي البور الرطبة، وتربة غابات مزروعة بأشجار حراجية متنوعة.

جُمِعت العينات خلال الفترة الممتدة بين تشرين الثاني 2008 وآذار 2009، وتم الحصول على العينة المركبة الواحدة من مجموعة العينات البسيطة والتي تم جمعها من عدة نقاط مزروعة عشوائياً على عمق 5-15 سم من الحقل المدروس، خلطت مع بعضها وأخذ منها حوالي 2 كغ تربة تمثل عينة مركبة، وضعت كل عينة مركبة في كيس بلاستيكي مع بطاقة بيانات كتب عليها اسم الموقع ورقم العينة وتاريخ الجمع، ومن ثم تم نقل جميع العينات المركبة في صندوق حافظ بلاستيكي (Ice box) على درجة حرارة 10° م إلى المختبر في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة تشرين.

تم قياس درجة حرارة التربة عند جمع العينات باستخدام ميزان حرارة رقمي، مع مراعاة جمعها بعد يوم ماطر حيث تكون التربة رطبة.

العمل المخبري:

تم عزل النيماتودا الممرضة للحشرات من التربة مخبرياً باستخدام طريقة الطعم Galleria bait method بوساطة دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Galleridae) وذلك حسب الطريقة الموصوفة من قبل Bedding & Akhurst (1975).

تربية يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*:

تم تربية دودة الشمع الكبرى *G. mellonella* في المخبر على أقراص شمع العسل التي تمثل غذاءها الطبيعي والذي جمعت من خلايا النحل المنتشرة في محافظة اللاذقية، والمصابة بدودة الشمع الكبرى. تم التعرف على وجود الإصابة من خلال الأنفاق الحريرية في الأقراص الشمعية ووجود المخلفات المتدلية من تلك الأنفاق ومشاهدة يرقات هذه الحشرة داخل الأقراص الشمعية، كما روعي اختيار الأقراص الشمعية الغامقة اللون والتي تمت فيها تربية حضنة النحل حيث إنها تحتوي على الكثير من الشوائب مثل جلود الانسلاخ والشرانق وحبوب الطلع والبروبوليس وهذه الشوائب

لها قيمة غذائية عالية ويعتمد عليها كمصدر بروتيني يضمن النمو السريع والتغذية الجيدة ليرقات *G.m* (Sandner & Brzeski , 1974).

تم وضع أقراص الشمع في المخبر في علب من البلاستيك بحجم (30 × 20 × 15) سم^3 مزودة بغطاء تم تثقيبه بثقوب صغيرة للتهوية بحيث لا تسمح بخروج اليرقات، ومن ثم تم وضع العلب في الحاضنة على درجة حرارة 30°م ورطوبة نسبية 75 - 85% مع الانتباه إلى إضافة أقراص الشمع كلما قلت كميته (Seryczynska *et al*., 1974).

طريقة استعمال يرقات *G. mellonella* كطعم:

خلال 24 ساعة من أخذ العينات الترابية المركبة ومباشرة عند إحضارها إلى المخبر تم خلط تربة كل عينة جيداً لتحقيق التجانس وبعد إزالة الأكدار، أخذت من كل عينة ترابية مركبة عينتان الواحدة بحجم 300سم^3 (تمثل مكررين للعينة المركبة) وضعت كل منها في عبوة من البلاستيك الأبيض ذات سطح دائري سعة 500 سم^3 ومزودة بغطاء، ثم أضيف فوق التربة يرقات *G. mellonella* بمعدل 6 يرقات/ للعبوة الواحدة، ثم قلبت العبوة بعد وضع الغطاء بهدف طمر اليرقات بالتربة، ووضعت العلب في جو الغرفة (عند حرارة 24 سْ) وسجل تاريخ بدء التجربة. تم الكشف الأول عن موت اليرقات *G. mellonella* بعد 24 ساعة ويومياً حتى اليوم العاشر.

تمَّ وضع اليرقات الميتة من كل علبة في طبق بتري مع بطاقة بيانات تتضمن عدد اليرقات الميتة وموعد الموت ورقم العينة التي أخذت منها، أما اليرقات الحية فتعاد إلى التربة في العلبة التي أخذت منها حيث يجري الكشف التالي عليها.

تم تشريح يرقات *G. mellonella* الميتة خلال 48 ساعة من حدوث الموت وذلك بمساعدة المكبرة حيث تم وضع اليرقة الميتة في طبق بتري مع قليل من الماء، وباستخدام إبرتي تشريح تم تمزيق جسم اليرقة *G. mellonella* الميتة بدءاً من منطقة الرأس حتى مؤخرة الجسم بهدف تقصي وجود النيماتودا داخل جسم اليرقة الميتة حيث تتحرك النيماتودا باتجاه ماء الطبق باعتبارها كائنات محبة للماء وبالتالي يمكن رؤيتها وعزلها للتشخيص (مسلم، 2009).

تعريف العزلات النيماتودية:

تمَّ تعريف العزلات النيماتودية حتى مستوى الجنس باستخدام المجهر العادي من خلال تتبع الصفات التصنيفية المميزة مورفولوجياً حيث تتميز أفراد الجنس *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) بموقع فتحة الإطراح التي توجد قبل الحلقة العصبية، عدم وجود سن واضح في مقدمة الرأس، عدم وجود كيس سفاد عند الذكر. في حين تتميز أفراد الجنس *Herterohabditis*: (Rhabditida: Heterorhabditidae) بموقع فتحة الإطراح الموجودة بعد الحلقة العصبية، وجود سن واضح في مقدمة الرأس وبوجود كيس سفاد في ذيل الذكر. كما يتميز هذا الجنس بظاهرتي التخنث والولادة. حيث يسهل تمييز الأفراد الخنثى (في جيل الآباء) حيث يكون التكاثر لا جنسي في البداية وبعد الولادة تتطور اليرقات عبر ثلاث انسلاخات إلى إناث وذكور بالغة فيصبح التكاثر جنسياً. ومن الضروري من أجل رؤية الخناث مراعاة أن يتم تشريح يرقة *G. mellonella* الميتة خلال فترة لا تتجاوز 48 ساعة من حدوث الموت (Kaya & Stock, 1997; Adams & Nguyen, 2002؛ توفيق، 1997؛ رجائي، 2010). أُدْرِجَتْ النتائج في جداول، كما تم حساب النسب التالية :

$$\text{نسبة الانتشار الطبيعي للنيماتودا في التربة} = \frac{\text{عدد عينات التربة الإيجابية التي تحتوي على النيماتودا}}{\text{العدد الكلي للعينات الترابية المدروسة}} \times 100$$

$$\text{نسبة موت يرقات } \textit{G. mellonella} = \frac{\text{عدد يرقات } (\textit{G.m.}) \text{ الميتة خلال مدة التجربة}}{\text{العدد الكلي ليرقات } (\textit{G.m.}) \text{ الداخل في التجربة}} \times 100$$

$$\textbf{نسبة عدوى يرقات } \textbf{\textit{G. mellonella}} \textbf{ بالنيماتودا} = \frac{\textbf{عدد يرقات}(\textbf{\textit{G.m.}}) \textbf{ التي تم تشريحها وتثبت وجود النيماتودا بداخلها}}{\textbf{العدد الكلي ليرقات } (\textbf{\textit{G.m.}}) \textbf{ المشرحة}} \times \mathbf{100}$$

أُجريت التحاليل المخبرية لعينات التربة الإيجابية لمعرفة الخصائص التالية: قوام التربة، درجة الحموضة pH، وذلك في محطة بحوث الهنادي.

إكثار الأجناس النيماتودية المعزولة:

جرى إكثار النيماتودا المعزولة بطريقة مصيدة وايت White Galleria trap (White, 1927)، حيث وُضِعَت اليرقات الميتة من *G. mellonella* بمعدل يرقتان لكل عينة إيجابية فوق زجاجة ساعة مقلوبة ومغطاة بورقة ترشيح في طبق بتري بقطر 9 سم يحتوي على 10 مل من محلول الفورمالين تركيز 0.1% بحيث تكون ورقة الترشيح ملامسة للمحلول. تم الكشف عن تواجد يرقات الطور المعدي في المحلول بوساطة المكبرة بعد أسبوعين، كما تمَّ تقدير أعدادها الناتجة من كل عزلة نيماتودية مقدرة كمتوسط لأعداد النيماتودا الناتجة عن يرقة *G. mellonella* الواحدة الميتة.

النتائج والمناقشة:

تبين النتائج الموضحة في الجدول (1)، أنه تم الحصول على 15 عزلة نيماتودية من ستة مواقع فقط من المواقع العشرة المدروسة، توزعت في أربعة مواقع من الأراضي المزروعة هي: طريق المزيرعة، حدائق عامة في المدينة (البطرني، وحديقة المتحف الوطني)، حديقة منزلية (حي مارتقلا)، بساتين الحمضيات (برج إسلام)؛ وفي موقع واحد من الأراضي البور غير المزروعة (الحرم الجامعي) ؛ وفي موقع واحد من الغابات (غابة الفرنلق). ويشير الشكل (1) إلى أن نسبة الانتشار الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات بلغت 22% من مجمل الأراضي المدروسة. في الواقع تنسجم هذه النتيجة مع ما جاء في الدراسات المتعلقة بالانتشار الطبيعي لهذه النيماتودا، حيث تتراوح نسبة انتشار النيماتودا الممرضة للحشرات في معظم الدراسات بين 6-35% من إجمالي العينات المدروسة (Rosa *et al*., 2000) ويشار هنا إلى أن هذه النسبة بلغت أعلى قيم لها في بريطانيا 48.6% (Hominick & Briscoe, 1990) وفي الجمهورية التشيكية 53.8% (Zdenêk *et al*., 1999).

من جهة أخرى يشير الشكل (1) إلى أن الأراضي الزراعية تميزت بأعلى نسبة انتشار للنيماتودا الممرضة للحشرات بلغت 30 % تلتها أرض الغابة 20%، في حين يُلاحظ النسبة الأقل في الأرض البور 13% من مجمل العينات المدروسة في كل مجموعة. وبالنظر إلى الدراسات المشابهة نجد أن هذه النتيجة تتوافق من جهة مع دراسة أجريت في أميركا تمَّ فيها أخذ عينات ترابية من حقول مزروعة بالصويا والحبوب النجيلية، وعينات من حقول مزروعة

بالأشجار المثمرة، وعينات من أراضي الغابات، ثبت بنتيجتها أن حوالي 47% من العينات المدروسة تحتوي على النيماتودا الممرضة للحشرات والتي كان تواجدها أكثر في الأراضي المزروعة وفي حقول الأشجار المثمرة منها في أراضي الغابات (Akhurst & Brooks, 1984)، في حين تختلف من جهة أخرى مع نتائج دراسة مماثلة أجريت في الجمهورية التشيكية، والتي تشير إلى أن تربة الغابات كانت غنية بالنيماتودا الممرضة للحشرات، وحققت الانتشار الأوسع بنسبة 64% مقارنة مع الأرض المزروعة التي بلغت فيها هذه النسبة 36%، في حين كانت معدومة في الأراضي الجرداء الرطبة (Mrâcêk, 1982). يشار هنا إلى دراسة لاحقة أجريت أيضاً في الجمهورية التشيكية ثبت فيها أن انتشار النيماتودا الممرضة للحشرات يرتبط بنوع التربة حيث كان انتشارها واسعاً في التربة الخفيفة وفي بيئة بساتين الفاكهة، هذا في الوقت الذي لم يثبت فيه انتشارها في التربة الثقيلة سواء في الغابات أو الأراضي المزروعة (Zdênêk and Kindlmann, 1999). نستطيع القول أن تواجد النيماتودا الممرضة للحشرات في التربة يتعلق عموماً بجملة من الظروف البيئية السائدة في الموقع المدروس، والتي تؤمن حركة الطور المعدي (IJ3) في التربة باتجاه العائل الحشري، أهمها درجات الحرارة ورطوبة التربة ودرجة احتفاظها بالماء والأوكسجين، وهذا بدوره يتعلق بقوام التربة الذي يتحكم بالميزان المائي الهوائي فيها، كما أن محتوى التربة من المادة العضوية ودرجة الـ pH تعتبر من العوامل الهامة والمؤثرة، إضافة إلى تواجد الحشرات التي تستطيع يرقات الطور المعدي من النيماتودا اختراقها لإتمام دورة الحياة والتطور والتكاثر داخل تلك الحشرات بعد قتلها ثم خروجها من جديد إلى التربة على شكل الطور المعدي (IJ3) والذي يتم على أساسه حساب نسبة الانتشار في التربة (Zdênêk and Kindlmann, 1999؛ Sandner, 1990).

إن جميع تلك الظروف تشكل عوامل اختلاف بين أتربة كلٍ من الأراضي المزروعة وأراضي الغابات والأراضي البور. وعند جمع عينات التربة بهدف الحصول على عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات يجب الأخذ بعين الاعتبار الظروف المثالية للانتشار، بحيث تكون درجات الحرارة ضمن الحدود المثالية والتي تقع بين 15 – 30°س وفي حال توفر الرطوبة الملائمة تقع في المجال 10–32° س، وتكون الرطوبة ملائمة إذا كانت السعة الحقلية في المجال 60- 40% وسماكة الأغشية المائية في التربة بحدود 2-5 ميكرون حيث يتحقق الميزان المائي الهوائي المطلوب والمثالي لحركة ونشاط الطور المعدي لهذه النيماتودا في التربة، ومما يزيد من نجاح هذه العملية هو أخذ العينات الترابية من تربة خفيفة القوام وبعد يوم ماطر (Sandner, 1990). يبين الجدول (2) أن درجة حرارة التربة في العينات الإيجابية تراوحت بين 12-16.5° س أي أنها تقع ضمن الظروف المثالية إلى حدٍ ما، وما يفسر وجود النيماتودا في العينات التي كانت حرارتها أقل من 15° س هو أن رطوبة التربة كانت مناسبة حيث تم جمع العينات بعد يوم ماطر، ومن جهة أخرى أكدت الدراسات في هذا المجال أن حركة ونشاط النيماتودا في التربة لا تنعدم ولكن تقل عندما تبتعد درجة الحرارة عن الحد المثالي ويرتبط ذلك بنوع وجنس النيماتودا، وتعتبر الحرارة أقل من الصفر وأعلى من 40° س قاتلة لمعظم أنواع النيماتودا الممرضة للحشرات (Stock *et al*., 1999). كما يشير الجدول (2) إلى أن درجة حموضة التربة (pH) في العينات الإيجابية التي احتوت على النيماتودا تراوحت بين 4.67 و7.91 وكانت درجات الـpH أخفض في أرض الغابة، ويُشار هنا إلى أن النيماتودا الممرضة للحشرات تستطيع أن تتحمل مدى واسع من قيمة الـpH ويرتبط ذلك بالجنس النيماتودي، فمثلاً أفراد الجنس *Steinernema* تقل فترة حياتها عند درجة حموضة 10، ولا اختلاف عند المدى 4 – 8 (Kung *et al*., 1993; Hara *et al*., 1991).

كما تدل نتائج تحليل التربة في العينات الإيجابية على أن قوام التربة تراوح بين اللومي، واللومي الرملي، والرملي اللومي الطيني، وهي ترب خفيفة إلى متوسطة القوام. ولم يُلاحظ القوام الطيني في أي من تلك العينات الإيجابية. هذه النتيجة تؤكد ما جاء في دراسات انتشار تمَّ فيها تحليل التربة في العينات الإيجابية والسلبية والتي أشارت إلى وجود النيماتودا الممرضة للحشرات في عينات التربة ذات القوام اللومي، واللومي الرملي في الأغلب وإلى عدم وجودها في عينات التربة ذات القوام الطيني. (ألوف وآخرون، 2008؛ Zdenêk *et al*., 1999; Selcuk *et al*., 2003 b)

ولعل ما يفسر ارتفاع نسب الانتشار الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات في الأراضي الزراعية وأرض الغابة الحقائق التالية:

- تستجيب الأطوار المعدية من النيماتودا الممرضة للحشرات فتتحرك منجذبة نحو غاز CO_2 المنطلق من العائل الحشري في التربة فتتحرك باتجاهه (Gougler and Kaya, 1991 ؛ رجائي، 2010).
- تفرز النباتات المزروعة غاز CO_2 مع الإطراحات الجذرية فتنجذب اليرقات (IJ3) إلى منطقة المحيط الجذري (الرايزوسفير) وتتجمع هناك؛ فإن استطاعت أن تهاجم الآفات الحشرية الموجودة في الوسط، التي تهاجم بدورها جذور النباتات المزروعة، وتمكنت النيماتودا من اختراق جسم الحشرة فإنها تتسبب في موتها ثم تتطور وتتغذى وتتكاثر في جسم الحشرة بعد موتها ثم تخرج منها على شكل الطور المعدي فتزداد أعداد (IJ3) في الأراضي الزراعية سواء الحقل أو البستان أو الغابة (Sandner, 1990).

وليس مستغرباً أن توجد النيماتودا في الأرض البور الرطبة إذا توفرت الظروف المناسبة لحركتها في التربة، وإذا توفرت الحشرات الملائمة لتطورها وتكاثرها من الآفات الحشرية التي تعيش في بيئة التربة الرطبة أو تقضي جزءاً من دورة حياتها هناك، ومن المعروف أن الكثير من الآفات الحشرية تقضي جزءاً من دورة حياتها في التربة (Klein, 1990).

يبين الجدول (3) موت معظم يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella* المستخدمة في التجربة، وذلك في تربة العينات الإيجابية حيث تراوحت نسبة الموت بين 67%–100%. يعود انخفاض نسبة الموت في بعض الحالات إلى عوامل تتعلق بخواص العزلة النيماتودية الموجودة في تربة العينة، فقد تكون النيماتودا بطيئة الحركة باتجاه العائل، أو قد تكون بطيئة في اختراقها لجسم العائل، وفي هذا المجال أكد الباحثان Bednarek & Novicki (1986) حقيقة مفادها أن الأطوار المعدية من النيماتودا الموجودة في الوسط خارج جسم العائل الحشري لا تكون جميعها قادرة على اختراق جسم الحشرة، حيث أنه كلما طال زمن الاختراق كانت فرصة الدخول أقل.

من جهة أخرى تشير نتائج تشريح يرقات *G. mellonella* الميتة المبينة في الجدول (3) إلى أن نسبة العدوى بالنيماتودا بلغت في معظم الحالات 100% مع وجود حالات انخفضت فيها هذه النسبة إلى 50%–80% بمعنى أن هناك عدداً من يرقات *G. mellonella* الميتة لم يثبت وجود النيماتودا بداخلها أي أن سبب الموت لا يتعلق بالنيماتودا.

في الواقع ومن وجهة النظر العملية المتعلقة بفعالية النيماتودا الممرضة للحشرات، فإن مؤشر نسبة العدوى يعتبر المؤشر الأهم حيث يمكن القول أن العزلات النيماتودية التي حققت نسبة عدوى 100% هي الأقوى في اختراق الحشرة. (Sandner & Pezowicz, 1986) لذا يجب ربط ما تقدم بالأجناس المسجلة في الجدول (4) الذي يشير إلى وجود الجنسين *Steinernema* و*Heterorhabditis*. فإذا تتبعنا مؤشر نسبة العدوى في العزلات التي ظهر فيها

كل جنس نيماتودي في الجدولين (3) و(4) نستطيع القول أن الجنس *Heterorhabditis* أقوى فاعلية في اختراق يرقات العائل الحشري من الجنس *Steinernema*. إن هذه النتيجة تتفق مع الترتيب التنازلي الذي بيّنه رجائي (2010) من حيث قدرة العائلات النيماتودية على مكافحة الحشرات إحيائياً، والذي يشير إلى أن النيماتودا التابعة لعائلة Heterorhabditidae أقوى من النيماتودا التابعة للعائلة Steinernematidae. ربما يعود ذلك إلى أن أنواع النيماتودا التابعة للجنس *Heterorhabditis* تتناسب مع المناطق البيئية الدافئة أو المعتدلة حرارياً مثل مناطق اللاذقية الساحلية، أكثر من سلالات أنواع الجنس الآخر *Steinernema* التي تتواجد وتتناسب مع المناطق البيئية المعتدلة أو المائلة للبرودة نوعاً ما مثل المناطق الداخلية والجبلية في سورية.

يوضح الجدول (4) وجود الجنس *Heterorhabditis* منفرداً في ثماني عزلات والجنس *Steinernema* منفرداً في خمس عزلات، وتواجد كلا الجنسين معاً في عزلتين من العزلات الخمسة عشرة التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة. ويوضح الشكل (2) أنه على مستوى إجمالي الأراضي المدروسة ساد الجنس *Heterorhabditis* بنسبة انتشار 53.3%، تلاه الجنس *Steinernema* بنسبة 33.3%، في حين وجد أن نسبة انتشار الجنسين مترافقان معاً في العزلة ذاتها، هي النسبة الأخفض (13.3%) من العزلات النيماتودية التي تم الحصول عليها في مجمل الدراسة.

أما في العزلات التي تم الحصول عليها من الأراضي المزروعة فقد كانت نسبة انتشار الجنس *Heterorhabditis* الأعلى (78%). هذه النتيجة تتوافق مع دراسات الانتشار في سورية التي أثبتت أن النوع السائد من النيماتودا الممرضة للحشرات ينتمي إلى الجنس *Heterorhabditis* في حقول اللوزيات في اللاذقية (ألوف وآخرون، 2008) وفي الأراضي الزراعية في المحافظات السورية (Canhilal *et al*., 2006).

يوضح الجدول (4) ظهور الإصابة المختلطة في 15 يرقة من يرقات *G. mellonella* التي تم تشريحها والتي احتوت على كلا الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* مترافقين معاً في اليرقة الميتة الواحدة. هذه النتيجة تسجل لأول مرة في دراسات الانتشار المتعلقة بالنيماتودا الممرضة للحشرات في سورية، ويوضح الشكل (2) نسب ظهور الإصابة المختلطة في الأرض البور وفي أرض الغابة. ويُشار هنا إلى وجود دراسات عالمية عديدة بينت تواجد عدة سلالات وأنواع وأجناس تابعة لفصائل مختلفة من النيماتودا الممرضة للحشرات في عينة تربة واحدة. في هذا المجال أشار توفيق (1997) إلى أن نوعاً واحداً فقط من عائلة Heterorhabditidae أو من عائلة Steinernematidae يكون منتشراً لوحده في الطبيعة، وربما يوجد النوعان معاً تحت ظروف خاصة، كما بين Sandner (1990) أن مصادفة إصابات مختلطة بأكثر من جنس من النيماتودا الممرضة للحشرات أمر وارد في الطبيعة، وأن المنافسة بين أنواع النيماتودا الممرضة للحشرات المنتشرة طبيعياً في التربة تتجلى عندما نصادف نوعين أو أكثر لهما متطلبات بيئية متشابهة، وعادةً نجد هذا عند الأنواع أو الأجناس ذات القرابة وتكون المنافسة على الغذاء والمكان، ويمكن أن يقضي أحدهما على الآخر.

بينت نتائج الإكثار المخبري لأجناس النيماتودا المسجلة في هذه الدراسة تفوق الجنس *Heterorhabditis* في إنتاج يرقات الطور المعدي حيث بلغ متوسط أعداد اليرقات المعدية الناتجة عن يرقة *G. mellonella* الواحدة الميتة في مجمل العزلات التي ظهر فيها هذا الجنس منفرداً (1326×10^3)، في حين بلغ هذا المتوسط بالنسبة للجنس *Steinernema* منفرداً (680×10^3)، وبالنسبة للإصابة المختلطة بكلا الجنسين (185×10^3). إن انخفاض أعداد اليرقات المعدية الناتجة عن الإصابة المختلطة يدل على وجود أثر سلبي للمنافسة بين الجنسين المترافقين في مستوى التكاثر على اليرقات الميتة للعائل الحشري.

الاستنتاجات والتوصيات:

-تؤكد هذه الدراسة ما جاء في دراسات سابقة حول وجود الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* في الأراضي السورية.

-وتؤكد أيضاً على أن الجنس *Heterorhabditis* هو الجنس السائد في الأراضي الزراعية.

-التسجيل الأول في سورية للإصابة المختلطة لكلا الجنسين المذكورين في العزلة ذاتها والتي ظهرت بعد تشريح اليرقات الميتة، في يرقة *G. mellonella* ذاتها.

-ثبت أن فاعلية العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* أقوى من العزلات التابعة للجنس *Steinernema*، وذلك وفق كافة المؤشرات المدروسة: نسبة الموت، نسبة العدوى، إنتاج يرقات الطور المعدي الجديدة.

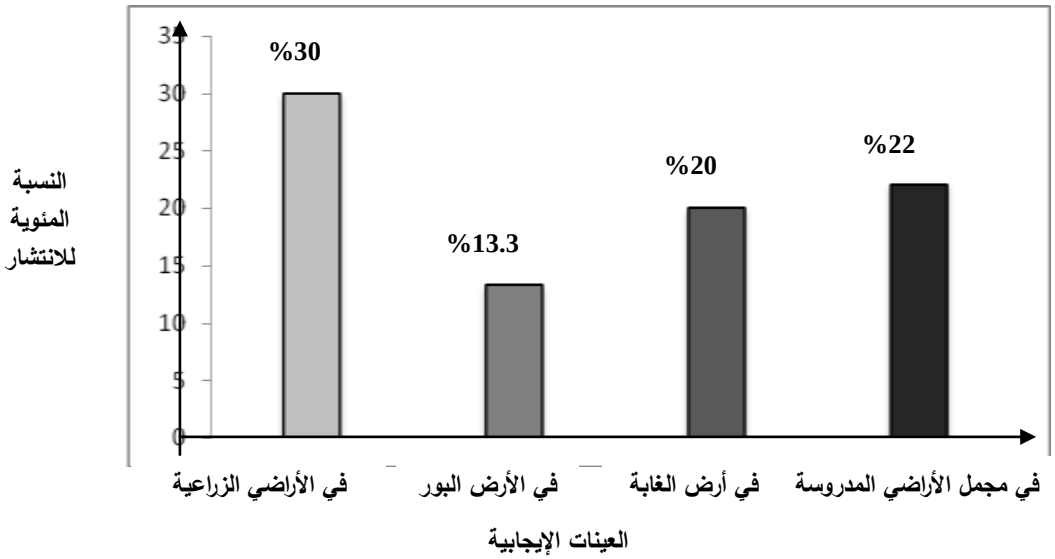
-ظهر الأثر السلبي للمنافسة بين الجنسين المترافقين معاً في خفض أعداد الطور المعدي الناتجة عن اليرقات الميتة للعائل الحشري المدروس.

-نوصي بتشخيص عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات عند الحصول عليها في دراسات مستقبلية من الأراضي السورية حتى مستوى النوع والسلالة.

الجدول (1): المواقع المدروسة والعينات الإيجابية المحتوية على النيماتودا الممرضة للحشرات وعزلات النيماتودا التي تم الحصول عليها.

نوع الأرض	رقم الموقع	اسم الموقع	النبات المزروع	عدد العينات المركبة	عدد العينات الإيجابية	رقم العزلة
الأراضي المزروعة	(1)	طريق المزيرعة	خضار صيفية بعد حبوب نجيلية	3	2	1 2
	(2)	حديقة جامعة تشرين	نباتات زينة متنوعة	6	-	-
	(3)	حدائق عامة في مدينة اللاذقية	نباتات زينة متنوعة	6	2	3 4
	(4)	حديقة منزلية حي مارتقلا	أشجار مثمرة متنوعة	1	1	5
	(5)	حديقة منزلية حي المشروع الثاني	أشجار مثمرة متنوعة	1	-	-
	(6)	بساتين برج اسلام	أشجار حمضيات	13	4	6 7 8 9
المجمـوع		6 مواقع		30	9	9 عزلات
الأراضي البور	(7)	الحرم الجامعي	أراضي بور رطبة	16	3	10 11 12
	(8)	جانبي اوتستراد اللاذقية . جبلة	أراضي بور رطبة	16	-	-
المجمـوع		موقعين		32	3	3 عزلات
	(9)	البسيط	أشجار صنوبر بروتي	7	-	-
	(10)	الفرنلق	أشجار حراجية	8	3	13 14

				صنوبر + كرز بري	15
المجمـوع		موقعين		15	3 عزلات
الإجمـالي		10 مواقع		68	15 عزلة



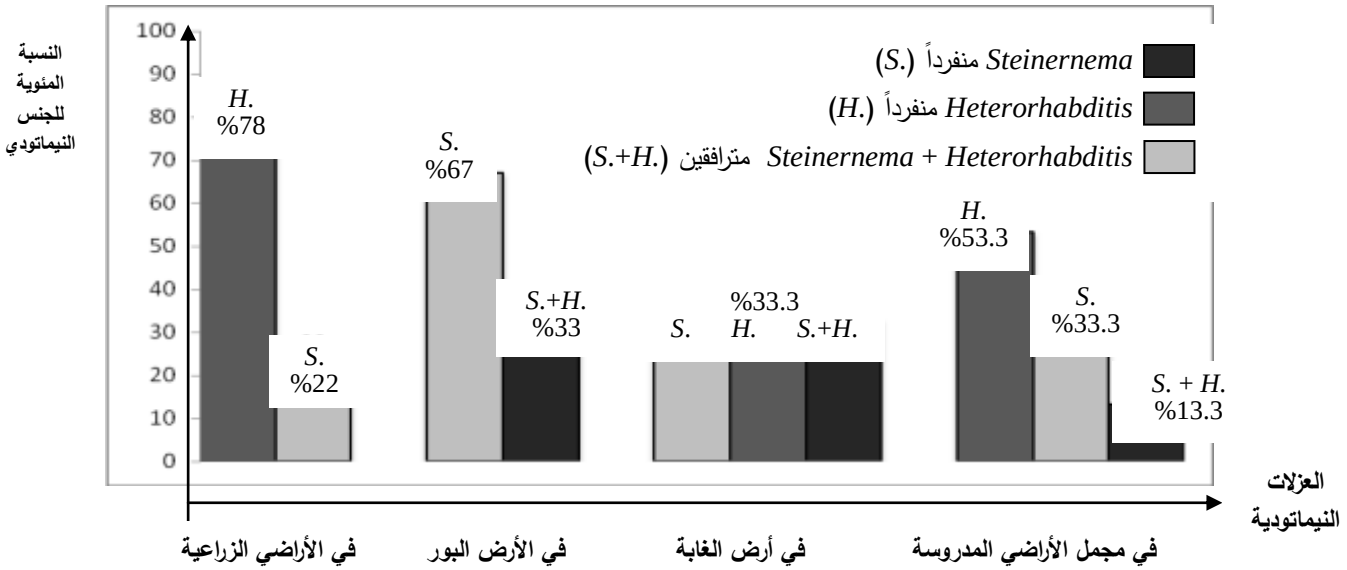
الشكل 1: النسب المئوية للانتشار الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات في تربة مختلف الأراضي المدروسة.

الجدول (2): نتائج التحاليل المخبرية لعينات التربة الإيجابية التي احتوت على النيماتودا الممرضة للحشرات ودرجات الحرارة المسجلة أثناء أخذ العينات.

رقم العينة الإيجابية	حرارة التربة س°	درجة الحموضة PH	قوام التربة
(1)	12° س	7.13	لومية رملية
(2)	12° س	7.17	لومية رملية
(3)	13° س	7.25	طينية لومية
(4)	13.5° س	7.39	طينية لومية
(5)	15.5° س	7.28	لومية
(6)	16.5° س	7.45	رملية طينية لومية
(7)	17° س	7.52	لومية
(8)	16° س	7.62	رملية لومية
(9)	15° س	7.91	طينية رملية
(10)	16.5° س	7.59	رملية طينية لومية
(11)	16.5° س	7.67	رملية طينية لومية
(12)	16.5° س	7.5	رملية طينية
(13)	15° س	4.67	طينية رملية لومية
(14)	15° س	5.61	رملية طينية لومية
(15)	15° س	6.9	رملية طينية لومية

الجدول (3): نتائج النسب المئوية لموت اليرقات *G. mellonella* في تربة العينات التي احتوت على عزلات النيماتودا، والنسب المئوية لعدوى اليرقات *G. mellonella* الميتة بالنيماتودا.

رقم العزلة	عدد اليرقات الداخل بالتجربة	عدد اليرقات الميتة	نسبة الموت %	عدد اليرقات الميتة التي تم تشريحها	عدد اليرقات الميتة التي ثبت وجود النيماتودا بداخلها بعد التشريح	نسبة العدوى %
(1)	12	10	% 83	8	6	% 75
(2)	12	12	% 100	10	8	% 80
(3)	12	12	% 100	10	10	% 100
(4)	12	12	% 100	10	10	% 100
(5)	12	8	% 67	6	6	% 100
(6)	12	10	% 83	8	8	% 100
(7)	12	12	% 100	10	10	% 100
(8)	12	10	% 83	8	8	% 100
(9)	12	8	% 67	6	6	% 100
(10)	12	12	% 100	10	8	% 80
(11)	12	10	% 83	8	6	% 75
(12)	12	10	% 83	8	8	% 100
(13)	12	12	% 100	10	8	% 80
(14)	12	12	% 100	10	5	% 50
(15)	12	12	% 100	10	7	% 70

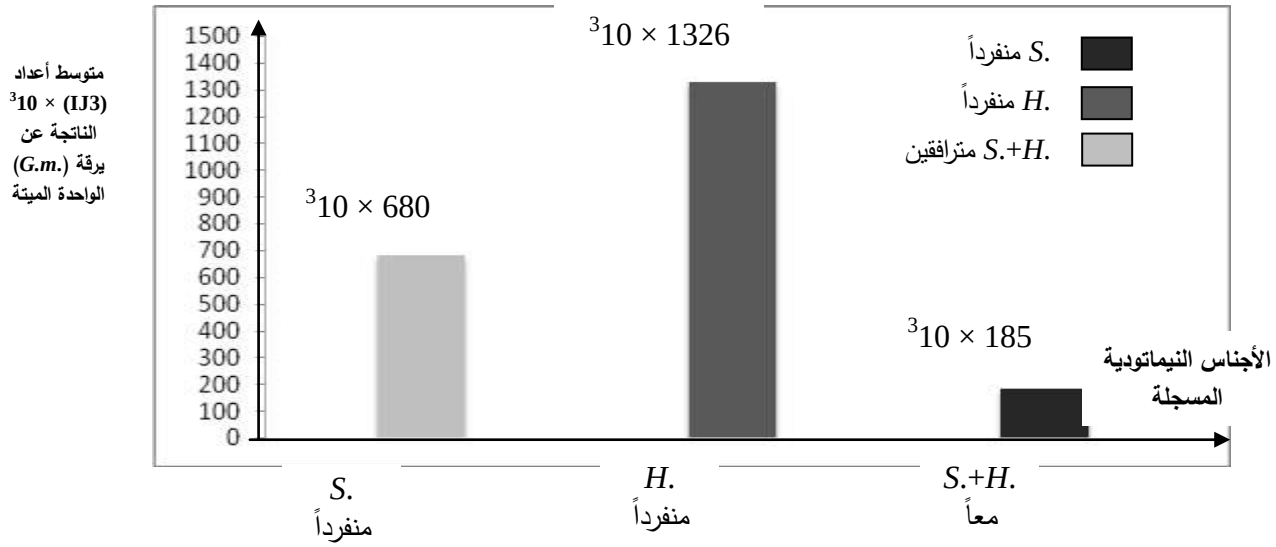


الشكل 2: النسب المئوية لانتشار أجناس النيماتودا المسجلة في العزلات النيماتودية.

الجدول (4):

نتائج تعريف الأجناس في عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات التي تم الحصول عليها من مواقع الدراسة ونتائج الإكثار المخبري لكل عزلة نيماتودية على يرقات *G.m.* الميتة والمتروكة في مصيدة وايت لمدة أسبوعين.

رقم العزلة	الجنس النيماتودي	متوسط أعداد (IJ3) الناتجة عن اليرقة الواحدة × 10^3
(1)	*Steinernema*	950
(2)	*Steinernema*	890
(3)	*Heterorhabditis*	1780
(4)	*Heterorhabditis*	1210
(5)	*Heterorhabditis*	1660
(6)	*Heterorhabditis*	1400
(7)	*Heterorhabditis*	1460
(8)	*Heterorhabditis*	1510
(9)	*Heterorhabditis*	1490
(10)	*Steinernema*	700
(11)	*Steinernema*	670
(12)	*Steinernema + Heterorhabditis*	200
(13)	*Steinernema*	190
(14)	*Heterorhabditis*	97
(15)	*Steinernema + Heterorhabditis*	170



الشكل 3: نتائج الإكثار المخبري لأجناس النيماتودا المسجلة في الدراسة، توضح متوسط أعداد الطور المعدي (IJ3) لكل جنس نيماتودي الناتجة عن اليرقة *G. mellonella* الواحدة.

المراجع:

1. ألوف، ندى . عادل حورية وزكريا مسلم " *تواجد النيماتودا الممرضة للحشرات في حقول اللوزيات باللاذقية. سورية.* مجلة جامعة تشرين للعلوم البيولوجية. المجلد (30) العدد (2)، 2008، 143 - 156.
2. الجبوري، ابراهيم جدوع واسماعيل أحمد الزوبعي . " *تسجيل جديد لنيماتودا متطفلة على الحشرات في العراق* "مجلة وقاية النبات العربية، المجلد 24 العدد 1، 2006، 56.
3. توفيق، محمد فؤاد . *"المكافحة البيولوجية للآفات الزراعية"* المكتبة الأكاديمية، القاهرة، الطبعة الأولى، 1997. 447 -456 – 458.
4. رجائي، محمد مصطفى شمس الدين . *"النيماتودا واستخدامها في المكافحة الإحيائية للآفات الحشرية في البلدان العربية"* الباب الرابع . من مرجع " *النيماتودا في البلدان العربية* "الجزء الثاني، إصدار الجمعية العربية لوقاية النبات . الطبعة الأولى، 2010، 927 . 969.
5. مسلم، زكريا. *فاعلية النيماتودا الممرضة للحشرات في مكافحة حشرة الكابنودس .Capnodis spp في حقول اللوزيات.* منشورات كلية الزراعة رسالة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 2009 ، 117.
6. ADAMS., B. J. and NGUTYN K. B. *Taxonomy and systematic*. in: GAUGLER, R (Ed). *Entomopathogenic nematology*. CAB international publishing Walling ford, UK 2002, 1 – 33.
7. AKHURST, R. J., BROOKS W.M. – *" The distribution of entomophilic nematodes (Hterorhabditidae and Steinernematidae "*in North Carolina. J. Invert. Pathol., 44. 1984. 140 – 145.
8. BEDDING, R. A., and AKHURST R. J."*A simple technique for detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica,* , Vol. 21 , 1975 , 109 – 110.
9. BEDNAREK A., NOWICKI T. *Effect of intrapopulation factors in the nematodes (Steinernematidae on intensity of insect infestation*. Zesz. Probl. Post. Nauh. Roln. 1986, 323: 199 – 212.
10. CANHILAL, R., REID W., KUTUK H. and EL-BOUSSINI M., "*Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Hterorhabditidae*) in Syrian soils. Res. J. Agric. & Biol. Sci. Vol. 2, No. 6, 2006, 493 – 497.
11. FOREST, S. and D.CLARKE. *Bacteria- Nematode symbiosis.* Chapter 3, In: R. Gangler (ed), Entomopathgenic nematology. CABI publishing CAB International, Wallingford, Oxon, OX10, 8DE UK. 2002. 57-77.
12. GLASER, R. W and FOX H. *"A nematode parasitic of the Japones beetle (Popillia japonica Newm.) "*, Science , Vol. 70 , 1930 , 16 - 17.
13. GOUGLER, R. and H.K. KAYA.*" Entomopathogenic nematodes in biological control CRC Press. Boston* , 1991 , 365.
14. GREWAL, P.S.; R.U. Ehlers and D.I. Shaprio-Ilan. *Nematodes as biocontrol agents*. CABI publishing CAB International Wallingford , Oxford sheire , OX 10 8 DE , 2005 UK. 505.
15. HARA, A. H.; R. GUAGLER; H.K. KAYA and L.M. LEBECK. *Natural population of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Hterorhabditidae)* from the Hawaiian islands. Environmental Entomology, Vol. 20, 1991, 211 – 216.

16. HOMINICK, JW. M. and B.R. BRISCOE. *Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Hterorhabditidae)* in British soil. Parasitology, Vol. 100, 1990 , 295 – 302.
17. KAYA, H.K. and S.P. STOCK. *Techniques in insect nematology*. In: LACEY, L. A. (Ed) Manual of techniques in insect pathology Biological Techniques Series. Academic Press. San Diego. London 1997 , 281 – 324.
18. KLEIN, M.G.. *Efficacy against soil – inhabiting insect pests*. In: Gaugler and Kaya, Eds, Entomopathogenic Nematodes in Biological / Control. CRC Press Boca Raton, Florida, 1990, pp. 195 – 214.
19. KUNG, S.P.; R. GUAGLER and H.K. KAYA. *Influence of soil PH and oxygen on persistence of Steinernema* spp. Jornal of Nematology, Vol. 22, 1993, 440 – 445.
20. MRÁCÊK , Z.. *" Estimate of the number of infective larvae of Steinernematidae in soil sample" , Nematologica ,* 28 , 1982 , 303 – 306.
21. POINAR, G.O.. *Nematodes for the biological control of insects. CRC Press, Bosca Raton ,* Florida , 1979, 277.
22. ROSA, J.S.; E. Bonifassi; J.A maral; L.A. Lacey; N. Simoes and C. Laumond. *Natural accurrence of Entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Hterorhabditidae)* in the Azores. Journal of Nematology, Vol. 32, 2000, 215 – 222.
23. SANDNER, H. and M. W. Brzeski. "*Zarys Nematologi*" Panstwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa , 1974 , 399.
24. SANDNER, H. , E. PEZOWICZ. *Influence of the Steinernema feltiae (Filipjev) and Hterorhabditidae bacteriophora (Poinar) invasive larvae on the Barathtra brassica L. caterpillars and their feeding.* Ann. Warsow Agricul. Univ., Vol. 20 1986, 49 – 56.
25. SANDNER, H., *Pasozyty w stuzbie czlowieka*. PWN , Warszawa , 1990 , S. 168.
26. SELCUK, H.; N. KESKIN; S.P. STOCK; H.K. KAYA and S. OZCAN. *Diversity and distribution entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Hterorhabditidae)* in Turkey. Biodiversity and Concervation, Vol. 12, 2003 a, 375 – 386.
27. SELCUK, H.; H.K. KAYA; S.P. STOCK and N. KESKIN. *Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Hterorhabditidae) for biological control of soil pests*. Turk. J. Biol. Vol. 27, 2003 b, 181 – 202.
28. SERYCZENSKA, H.; M. KAMIONEK and H. SANDNER. "*Defensive reaction caterpillars of Galleria mellonella."*, Bull – Acad Pol. Sci., 1974, Cl. 11, 22.
29. SMART, G.C., *Entomopathogenic nematodes for biological control of insects*. Jornal of Nematology , Vol : 27 , No. 4 , 1995 , 529 – 534.
30. STOCK, S.P.;B.M. PRYOR and H.K. KAYA. *Distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae Hterorhabditidae)* in California, USA. Biodiversity and Conservation, Vol. 8, 1999, 335 – 549.
31. WAFA, N.; A. MAHASNEH; L. BANNA; A. ALKHATBEH; R. DARWISH and P. Stock. *Control of almond borer by entomopathogenic nematode.* In: the sixth Jordanian. 2007, 46.
32. WHITE, G. F. "*A method for abtiaining infective nematode larvae from cultures.*" Science , Vol. 66 , 1927 , 302 – 303.
33. ZDÊNÊK S.M.B. and P. KINDLMANN. "*Survey of entomopathogenic nematodes from the families Steinernematidae and Heterorhabditidae*" (Nematod: Rhabditida) in the CZech Republic. Folia Parasitologica, Vol: 46, 1999, 145 –148.